

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Vitamin E (*α-tocoferol*) terhadap Kerusakan Kultur Primer Sel Paru-Paru Fetus Hamster yang Dipapar Etanol

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANAVA tunggal tentang pengaruh vitamin E (*α-tocoferol*) terhadap kerusakan kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol diperoleh data yang menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$. Hal tersebut menunjukkan bahwa ada pengaruh yang sangat nyata dari pemberian vitamin E terhadap kerusakan kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol sebagaimana yang tercantum dalam tabel 4.1.

Tabel 4.1 Ringkasan ANAVA Tunggal tentang Pengaruh Vitamin E (*α-tocoferol*) terhadap Kerusakan Kultur Primer Sel Paru-Paru Fetus Hamster yang Dipapar Etanol

SK	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 1%
Perlakuan	6	9680,95	1613,49	150,65**	4,46
Galat	14	150,00	10,71		
Total	20				

Keterangan : ** menunjukkan berbeda sangat nyata

Berdasarkan perhitungan nilai KK didapatkan hasil nilai KK untuk kerusakan kultur primer sel paru-paru adalah 10%, sehingga untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang ada dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 1%. Hasil uji BNT 1% dari rata-rata kerusakan kultur primer sel paru-paru, didapatkan notasi BNT seperti pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Ringkasan Uji BNT 1% tentang Pengaruh Vitamin E (*α -tocoferol*) terhadap Kerusakan Kultur Primer Sel Paru-Paru Fetus Hamster yang Dipapar Etanol

Perlakuan	Rata-rata (%)	Notasi 1%
K (-)	0,00	a
P ₅ 125 μ M	8,33	b
P ₄ 100 μ M	28,33	c
P ₃ 75 μ M	33,33	c
P ₂ 50 μ M	41,67	d
P ₁ 25 μ M	46,67	d
K (+)	68,33	e

Keterangan : Angka yang didampingi oleh adanya huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda sangat nyata pada taraf signifikansi 1%

Dari hasil tabel 4.2 dapat diketahui bahwa perlakuan K (-) berbeda sangat nyata dengan perlakuan P₅, P₄, P₃, P₂, P₁ dan K (+). Perlakuan K (+) berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (-), P₅, P₄, P₃, P₂, dan P₁. Perlakuan P₅ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (-), P₄, P₃, P₂, P₁ dan K (+). Perlakuan P₄ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (-), P₅, P₂, P₁ dan K (+) tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P₃. Perlakuan P₃ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (-), P₅, P₂, P₁ dan K (+) tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P₄. Perlakuan P₂ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (-), P₅, P₄, P₃, dan K (+) tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P₁. Perlakuan P₁ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (-), P₅, P₄, P₃ dan K (+) tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P₂.

Berdasarkan notasi BNT 1%, dapat diketahui bahwa pemberian konsentrasi vitamin E yang mulai memberikan pengaruh terhadap penurunan kerusakan kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol adalah perlakuan P₁, tetapi konsentrasi vitamin E yang efektif dalam mengurangi kerusakan kultur primer sel

paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol adalah pada perlakuan P₅, sedangkan tingginya kerusakan kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol ditemukan pada perlakuan K (+).

Adanya pengaruh vitamin E terhadap kerusakan kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol dikarenakan vitamin E merupakan antioksidan yang dapat menjaga permeabilitas membran sehingga sel paru-paru dapat melakukan metabolisme sel dengan baik dan dapat menghasilkan energi (ATP) untuk proses pembelahan sel. Menurut Sumardi (2007) menjelaskan bahwa permeabilitas membran sel yang terganggu dapat menyebabkan gangguan atau perubahan pada komponen penyusun membran sehingga nutrisi yang dibutuhkan tidak dapat masuk ke dalam sel dan sisa metabolisme tidak dapat dikeluarkan dari dalam sel sehingga proses metabolisme pembentukan energi berupa ATP yang terjadi di dalam mitokondria terganggu yang akhirnya menyebabkan kerusakan pada sel.

Kerusakan sel merupakan perubahan atau gangguan yang dapat mengurangi viabilitas atau fungsi esensial sel (Moodie, 2004). Kerusakan sel terjadi karena meningkatnya jumlah radikal bebas atau menurunnya perubahan antioksidan (Nawasasi, 2003). Metabolisme etanol di dalam sel dapat menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas sehingga terjadi stress oksidatif yang akan merusak sel (Chamulitrat, *et al.* 1988).

Peningkatan radikal bebas akibat alkohol juga terjadi melalui mekanisme enzim *inducer* yaitu enzim sitokrom P-450 sehingga enzim tersebut meningkat dan secara langsung dapat meningkatkan radikal bebas dengan membentuk radikal

superoksida, maupun secara tidak langsung melalui NADPH (Beckman dan Ames, 1998). Penelitian Kono *et al.* (2001) menunjukkan bahwa sumber radikal bebas dari etanol adalah NADPH sebab penghambatan enzim tersebut dapat menurunkan produksi radikal bebas pada tikus yang diberikan etanol.

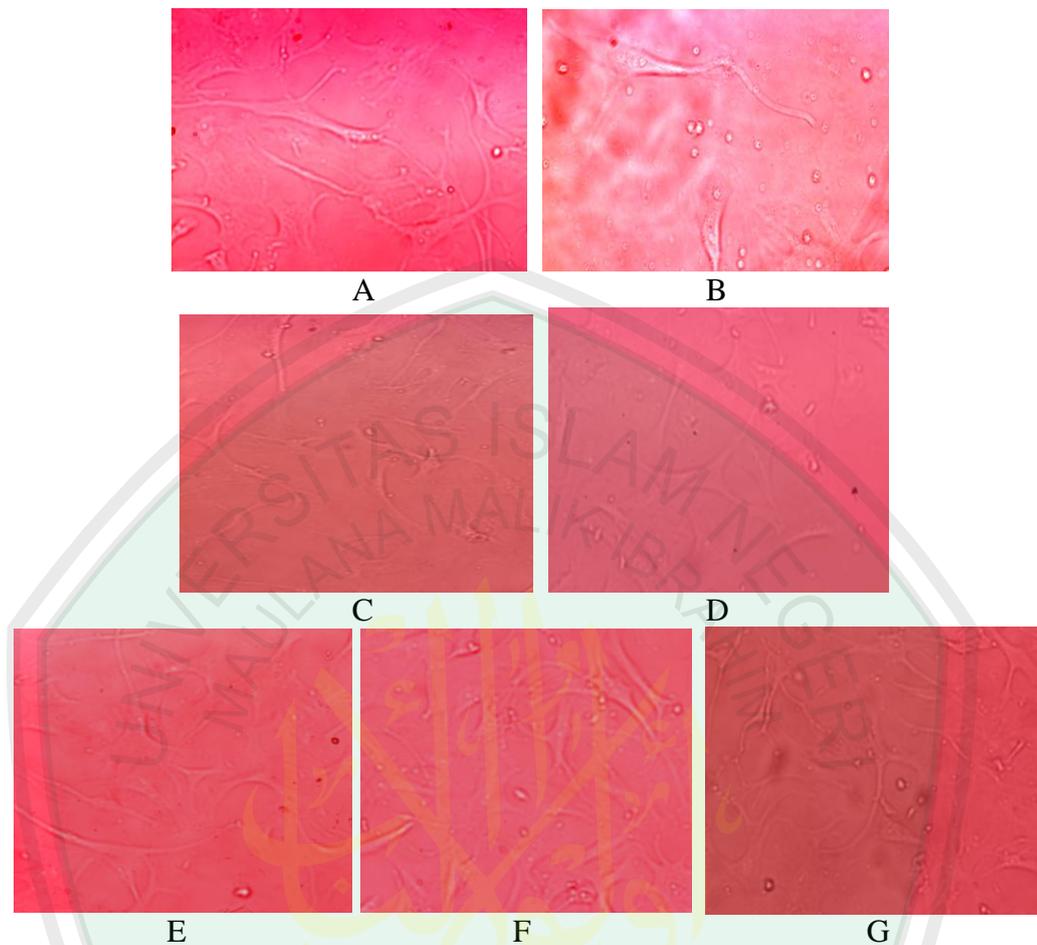
Mekanisme kerusakan sel pada kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol adalah radikal bebas yang dihasilkan selama metabolisme etanol akan menyerang membran sel khususnya ikatan-ikatan rangkap lipid yang nantinya akan menyebabkan pelepasan hidrogen pada PUFA sehingga menghasilkan radikal alkil (asam lemak). Radikal alkil selanjutnya akan bereaksi dengan oksigen bebas dan terbentuk radikal peroksi. Radikal peroksi yang terbentuk akan bereaksi langsung dengan PUFA atau terjadilah peroksidasi lipid dan menghasilkan hidroperoksida serta radikal alkil yang baru sehingga proses ini akan terjadi secara terus-menerus dan terjadilah reaksi berantai. Hasil akhir dari reaksi berantai ini akan menyebabkan stabilitas membran dan sederetan reseptor terganggu sehingga radikal bebas tersebut akan menyerang komponen yang lain seperti protein dan DNA sehingga menyebabkan kerusakan sel.

Kerusakan sel dapat terjadi karena pengaruh langsung (*direct damage*) terhadap DNA, protein dan lipid dan secara tidak langsung (*secondary damage*) akibat meningkatnya ion Ca^{2+} intraseluler yang dapat merangsang protease dan nuclease yang akan merusak DNA dan sitoskeleton. ATP akan makin berkurang dan keadaan ini akan menyebabkan kerusakan sel yang permanen (Nawasasi, 2003).

Target utama yang menjadi oksidasi etanol yaitu pada membran sel dan terkait dengan kerusakan dan kematian sel yang berlebihan. Penelitian Chen (1996) menunjukkan bahwa pemberian etanol selama 24 jam sudah mampu berikatan positif terhadap mobilitas lateral membran lipid pada kultur primer neural cranial mencit dan menyebabkan penurunan viabilitas sel. Etanol dapat merusak struktur membran sel dan menyebabkan gangguan fungsi pada membran yang normal. Pengaruhnya yang lain adalah melepaskan metabolit kecil dari sel dan mengganggu transpor aktif dan metabolisme energi (Miller, 1993).

Kerusakan sel akibat etanol disebabkan karena interaksinya dengan membran yang akan menyebabkan terpengaruhnya fungsi membran dalam menyampaikan signal antar sel (Pospos, 2005). Interaksi antar sel penting untuk perkembangbiakan sel. Interaksi ini dilakukan agar sel dapat berkomunikasi satu dengan yang lainnya. Interaksi sel dan lingkungannya mencakup hubungan antar sel, hubungan antar sel dan matriks ekstraseluler, dan komunikasi antar sel. Tahapan yang dilakukan dalam proses signaling sel adalah sintesis dan pelepasan molekul ligan atau signal oleh sel signaling kepada sel target.

Albert (2002), menjelaskan bahwa proliferasi sel dapat dipengaruhi oleh suatu ligan. Ligan berikatan dengan reseptor pada membran sel, kemudian mengaktifkan beberapa protein di dalam sel melalui fosforilasi. Transduksi sinyal tersebut diteruskan ke dalam inti sel untuk mengaktifkan faktor transkripsi yang selanjutnya dapat mengaktifkan siklus sel.



Gambar 4.1 Kerusakan Kultur Primer Sel Paru-Paru Fetus Hamster (Perbesaran 100x) (A. Perlakuan tanpa vitamin E dan paparan etanol (K (-)), B. Perlakuan tanpa vitamin E dan dipapar etanol (K (+)), C. Perlakuan P₁ (25 µM), D. Perlakuan P₂ (50 µM), E. Perlakuan P₃ (75 µM), F. Perlakuan P₄ (100 µM) dan G. Perlakuan P₅ (125 µM))

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa kerusakan sel pada kultur primer sel paru-paru fetus hamster dengan perlakuan vitamin E konsentrasi 125 µM yang dipapar etanol 10 mM selama 24 jam sangat sedikit yaitu 8,33% karena masih banyak sel yang berekspansi. Ini membuktikan vitamin E konsentrasi 125 µM merupakan perlakuan yang efektif dalam mengurangi kerusakan kultur primer sel paru-paru akibat paparan etanol. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa antioksidan eksogen yang berupa vitamin E dapat mencegah atau menghambat

reaksi radikal bebas yang disebabkan oleh etanol karena vitamin E akan menyumbangkan satu atom hidrogennya pada radikal bebas tersebut sehingga menjadi stabil. Dengan adanya vitamin E maka kerusakan sel pada kultur sel primer paru-paru fetus hamster akibat radikal bebas yang dihasilkan selama metabolisme etanol dapat diminimalisir dan proliferasi sel dapat terkendali.

Mekanisme vitamin E dalam menghambat peroksidasi lipid dimulai pada saat lipid kehilangan satu hidrogen dan membentuk radikal, yang bereaksi dengan oksigen bebas untuk menghasilkan *radikal peroksil*, dengan adanya reaksi *radikal peroksil* selanjutnya akan terbentuk reaksi berantai, hal ini dapat terjadi di dalam membran sel yang dapat mengganggu integritas struktur membran (Landes, 2005). Penelitian lain yang dilakukan oleh Chow (1991) menunjukkan bahwa vitamin E merupakan antioksidan yang dapat mengganggu propagasi peroksidasi lipid pada membran plasma sehingga dapat mempertahankan kestabilan membran.

Permeabilitas membran sel penting dalam mengatur materi-materi ion anorganik seperti ion Na^+ dan K^- yang masuk dan keluar sel, memasukkan materi yang diperlukan (protein, lemak dan karbohidrat) dan mengeluarkan sisa metabolisme sel yaitu ATP. Permeabilitas membran sel berkaitan erat dengan transport nutrisi seperti protein berupa asam amino, lemak berupa kolesterol yang diperlukan untuk metabolisme sel dalam menghasilkan energi (Istanti, 1999).

4.2 Pengaruh Vitamin E (*α -tocoferol*) terhadap Viabilitas Kultur Primer Sel Paru-Paru Fetus Hamster yang Dipapar Etanol

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANAVA tunggal tentang pengaruh vitamin E (*α -tocoferol*) terhadap viabilitas kultur primer sel

paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol diperoleh data yang menunjukkan bahwa F hitung $>$ F tabel 1%. Hal tersebut menunjukkan bahwa ada pengaruh yang sangat nyata dari pemberian vitamin E terhadap viabilitas kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol sebagaimana yang tercantum dalam tabel 4.3.

Tabel 4.3 Ringkasan ANAVA Tunggal tentang Pengaruh Vitamin E (*α -tocoferol*) terhadap Viabilitas Kultur Primer Sel Paru-Paru Fetus Hamster yang Dipapar Etanol

SK	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 1%
Perlakuan	6	1091,057	181,843	131,012**	4,46
Galat	14	19,426	1,388		
Total	20				

Keterangan : ** menunjukkan berbeda sangat nyata

Berdasarkan perhitungan nilai KK didapatkan hasil nilai KK untuk viabilitas kultur primer sel paru-paru adalah 2%, sehingga untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang ada dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) 1%. Hasil uji BNJ 1% dari rata-rata viabilitas kultur primer sel paru-paru, didapatkan notasi BNJ seperti pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Ringkasan Uji BNJ 1% tentang Pengaruh Vitamin E (*α -tocoferol*) terhadap Viabilitas Kultur Primer Sel Paru-Paru Fetus Hamster yang Dipapar Etanol

Perlakuan	Rata-rata (%)	Notasi 1%
K (+)	59,64	a
P ₁ (25 μ M)	68,93	b
P ₂ (50 μ M)	72,20	bc
P ₃ (75 μ M)	74,87	c
P ₄ (100 μ M)	79,89	d
K (-)	80,15	d
P ₅ (125 μ M)	81,44	d

Keterangan : Angka yang didampingi oleh adanya huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda sangat nyata pada taraf signifikansi 1%

Dari hasil tabel 4.4 dapat diketahui bahwa perlakuan K (+) berbeda sangat nyata dengan perlakuan P₁, P₂, P₃, P₄, P₅ dan K (-). Perlakuan P₁ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (+), P₃, P₄, K (-) dan P₅ tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P₂. Perlakuan P₂ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (+), P₄, K (-) dan P₅ tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P₁ dan P₃. Perlakuan P₃ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (+), P₁, P₄, K (-) dan P₅ tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P₂. Perlakuan P₄ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (+), P₁, P₂, dan P₃ tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (-) dan P₅. Perlakuan K (-) berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (+), P₁, P₂, dan P₃ tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P₄ dan P₅. Perlakuan P₅ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (+), P₁, P₂, dan P₃ tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P₄ dan K (-).

Berdasarkan notasi BNJ 1%, dapat diketahui bahwa pemberian konsentrasi vitamin E yang mulai memberikan pengaruh terhadap viabilitas kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol adalah perlakuan P₁, tetapi konsentrasi vitamin E yang efektif dalam mempertahankan viabilitas kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol adalah pada perlakuan P₄. Penurunan viabilitas kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol ditemukan pada perlakuan K (+).

Adanya pengaruh vitamin E terhadap viabilitas kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol dikarenakan vitamin E merupakan antioksidan yang larut dalam lipid dan dapat melindungi PUFA dengan cara memutuskan rantai peroksidasi lipid yang dapat menyebabkan rusaknya membran sel. Keadaan

ini akan menyebabkan gangguan pada proses metabolisme seluler. Metabolisme seluler dapat berupa katabolisme, yaitu respirasi yang menghasilkan energi berupa ATP untuk digunakan sel dalam melakukan kerjanya. Kerja sel dapat berupa pembelahan sel dengan tujuan untuk memperbanyak jumlahnya. Menurut Campbell (2004), menjelaskan bahwa adanya gangguan pada proses respirasi seluler menyebabkan ATP yang terbentuk menurun. Jika energi untuk pembelahan sel menurun, maka proses pembelahan dapat terhambat sehingga jumlah sel yang dihasilkan juga menurun.

Viabilitas sel ditentukan dari kemampuan sel untuk hidup dan menjalankan metabolismenya (Prihastanti, 1999). Viabilitas sel menunjukkan respon sel jangka pendek seperti perubahan permeabilitas membran atau adanya gangguan pada jalur metabolisme tertentu dalam sel. Viabilitas sel sering digunakan sebagai penanda sitotoksitas suatu bahan. Salah satu yang mengindikasikan sitotoksitas suatu bahan adalah adanya penurunan proliferasi sel dan penurunan viabilitas sel (Freshney, 2000).

Pewarnaan yang digunakan untuk menghitung viabilitas sel pada penelitian ini adalah larutan *tripan blue*. Metode yang paling mudah untuk menentukan jumlah sel hidup adalah penghitungan sel dengan menggunakan hemositometer dan menggunakan pewarna *tripan blue* 0,4% karena *tripan blue* tidak merubah integritas membran plasma dan memperlambat proses kematian sel (Bolt, 2001). Menurut Djajanegara (2009), metode yang digunakan untuk melihat viabilitas sel salah satunya dilakukan dengan cara menambahkan larutan *tripan blue* agar dapat membedakan sel yang hidup dan yang mati. Sel yang mati akan terlihat berwarna

biru, karena membran selnya mengalami lisis sehingga protein dalam plasmanya akan berikatan dengan *tripan blue*. Hal ini tidak terjadi pada sel yang hidup karena tidak mengalami kerusakan pada membran selnya.

Etanol dapat menyebabkan penurunan viabilitas sel dengan cara radikal bebas akibat metabolisme etanol yang menimbulkan terganggunya stabilitas membran dan sederetan reseptor akan mengakibatkan terganggunya sitoskeleton sel diantaranya ion Ca^{2+} dan ATP. Ini akan menyebabkan penumpukan kalsium atau meningkatnya ion Ca^{2+} baik dari ekstrasel maupun dari pelepasan mitokondria dan retikulum endoplasma. Dengan meningkatnya ion Ca^{2+} maka enzim protease maupun endonuklease yang sifatnya merusak DNA akan aktif. Selanjutnya akan terjadi peningkatan poliribosom sehingga NAD^+ kosong dan produksi ATP terhambat sehingga sel tersebut akan mengalami kerusakan yang nantinya akan mati dan viabilitas sel menjadi menurun.

Menurut Hamada (2002), menyatakan bahwa etanol mempengaruhi proliferasi sel yang dikultur, dapat menurunkan jumlah sel yang hidup dengan memperlambat proliferasi sel dan meningkatkan kejadian kematian sel. Hasil penelitian Pospos (2005), menduga bahwa etanol merangsang terbentuknya asetaldehide serta menurunnya rasio NAD^+/NADH .

Panjaitan (2007) menyatakan bahwa radikal bebas yang menyerang membran sel yang tersusun atas fosfolipid dapat menyebabkan gangguan permeabilitas membran. Hal ini menyebabkan influk kalsium dan memacu pengaktifan sejumlah enzim perusak seperti protease yang dapat merusak DNA.

Pengaturan produksi radikal bebas dan antioksidan di dalam sel secara alamiah sudah diatur oleh Allah dalam keadaan seimbang. Jika jumlah radikal bebas di dalam sel melebihi jumlah antioksidan yang diproduksi secara intraseluler maka dapat menyebabkan gangguan pada berbagai komponen sel, salah satunya lemak tak jenuh ganda pada sel paru-paru sehingga akan menyebabkan integritas sel terganggu. Hal tersebut merupakan tanda ketidakseimbangan dan akan mengganggu proses metabolisme sel yang normal. Firman Allah Swt. dalam Al-qur'an Surat Al-Mulk : 3, yaitu :

مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفَوُّتٍ ۖ فَارْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ﴿٣﴾

"Kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang?" (Qs. Al-Mulk : 3).

Ayat tersebut menegaskan bahwa Allah menciptakan segala sesuatu dalam kondisi seimbang termasuk metabolisme di dalam sel, salah satunya sel paru-paru. Produksi radikal bebas yang dihasilkan sel paru-paru selama proses metabolisme normal tidak bersifat toksik, tetapi setelah pemaparan etanol secara terus menerus akan menyebabkan peningkatan radikal bebas di dalam sel dan memicu kondisi stress oksidatif. Kondisi ini akan berakibat pada kerusakan sel dan berpengaruh terhadap viabilitas sel paru-paru.

Secara ilmiah dalam tingkat molekuler telah dijelaskan bahwa proses metabolisme yang dilalui sel harus dalam keadaan seimbang, sehingga dibutuhkan asupan vitamin secara ekstraseluler, ini bertujuan untuk menjaga keseimbangan

antara radikal bebas dan antioksidan sehingga berbagai penyakit yang terjadi akibat radikal bebas dapat diminimalisir.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa vitamin E konsentrasi 100 μM dapat mempertahankan viabilitas kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol, karena vitamin ini mempunyai kemampuan untuk mengurangi adanya suatu senyawa yang tidak seimbang dalam sel menjadi metabolit yang seimbang dengan memberikan atom hidrogennya.

Vitamin E merupakan antioksidan yang larut dalam lemak dan berada pada lapisan fosfolipid membran sel. Vitamin E melindungi *Poly Unsaturated Fatty Acids (PUFA)* dan komponen membran sel lain dari oksidasi radikal bebas dengan memutuskan rantai peroksida lipid yang muncul karena adanya reaksi antara lipid dan radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogen dari gugus OH pada cincinnya ke radikal bebas, sehingga terbentuk radikal vitamin E yang stabil dan tidak merusak (Hariyatmi, 2004). Dengan adanya vitamin E maka radikal bebas akibat metabolisme etanol dapat distabilkan sehingga viabilitas sel dapat dipertahankan.

Hasil penelitian Sugiyama (1989) menunjukkan bahwa vitamin E dengan konsentrasi 25 μM mampu mempertahankan viabilitas sel V-79 hamster cina yang dipapar 15 μM sodium kromat selama kultur, sedangkan hasil penelitian Bolt (2001) diketahui bahwa vitamin E konsentrasi 300 μM mampu melindungi kultur sel makrofag alveolar paru-paru hamster dari toksisitas 100 μM amiodarone dan 50 μM N-desethylamiodarone.

4.3 Pengaruh Vitamin E (*α -tocoferol*) terhadap Abnormalitas Kultur Primer Sel Paru-Paru Fetus Hamster yang Dipapar Etanol

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANAVA tunggal tentang pengaruh vitamin E (*α -tocoferol*) terhadap abnormalitas kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol diperoleh data yang menunjukkan bahwa F hitung > F tabel 1%. Hal tersebut menunjukkan bahwa ada pengaruh yang sangat nyata dari pemberian vitamin E terhadap abnormalitas kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol sebagaimana yang tercantum dalam tabel 4.5.

Tabel 4.5 Ringkasan ANAVA Tunggal tentang Pengaruh Vitamin E (*α -tocoferol*) terhadap Abnormalitas Kultur Primer Sel Paru-Paru Fetus Hamster yang Dipapar Etanol

SK	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 1%
Perlakuan	6	6335,84	1055,97	47,8**	4,46
Galat	14	309,20	22,09		
Total	20				

Keterangan : ** menunjukkan berbeda sangat nyata

Berdasarkan perhitungan nilai KK didapatkan hasil nilai KK untuk abnormalitas kultur primer sel paru-paru adalah 20%, sehingga untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang ada dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Duncan (UJD) 1%. Hasil uji UJD 1% dari rata-rata abnormalitas kultur primer sel paru-paru, didapatkan notasi UJD seperti pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Ringkasan Uji UJD 1% tentang Pengaruh Vitamin E (*α -tocoferol*) terhadap Abnormalitas Kultur Primer Sel Paru-Paru Fetus Hamster yang Dipapar Etanol

Perlakuan	Rata-rata (%)	Notasi 1%
P ₅ (125 μ M)	6,45	a
P ₄ (100 μ M)	9,23	a
K (-)	14,14	a
P ₃ (75 μ M)	14,59	a
P ₂ (50 μ M)	24,86	a
P ₁ (25 μ M)	32,99	a
K (+)	60,33	b

Keterangan : Angka yang didampingi oleh adanya huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 1%

Dari hasil tabel 4.6 dapat diketahui bahwa perlakuan K (+) berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (-), P₁, P₂, P₃, P₄ dan P₅. Berdasarkan notasi UJD 1%, dapat diketahui bahwa pemberian vitamin E pada perlakuan P₁ menunjukkan persentase abnormalitas kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol mengalami penurunan, dan hasil ini akan semakin turun pada perlakuan P₂, P₃, K (-), P₄ dan P₅ jika dibandingkan dengan kontrol, hal ini menunjukkan ada perbedaan nyata dari beberapa perlakuan yang diberikan.

Konsentrasi vitamin E yang mulai berpengaruh terhadap penurunan abnormalitas kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol adalah perlakuan P₁. Ini menunjukkan bahwa vitamin E dalam sel memiliki ukuran (kadar) tertentu dalam aktivitasnya sebagai antioksidan, termasuk ukuran vitamin E dalam menurunkan abnormalitas kultur primer sel paru-paru. Allah menciptakan segala sesuatu berdasarkan fungsi masing-masing sesuai dengan ketentuan kadar-Nya, sebagaimana dijelaskan dalam firman Allah Swt. dalam Alqur'an surat al-Qomar : 49, yaitu :

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

”*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*” (Qs. al-Qomar : 49).

Ayat tersebut menunjukkan bahwa segala sesuatu yang diciptakan Allah mempunyai ukuran dan fungsi yang sesuai, termasuk ukuran vitamin E dan aktivitasnya sebagai antioksidan pada kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa vitamin E konsentrasi 25 μ M mampu mengurangi abnormalitas sel, sedangkan hasil penelitian Permadhy (2007) menjelaskan bahwa vitamin E yang digunakan dalam jangka waktu yang panjang dengan kadar lebih dari 800 mg-3,2 g bersifat toksik terhadap tubuh yang dapat dilihat secara *in vivo*.

Adanya pengaruh vitamin E terhadap abnormalitas kultur primer sel paru-paru fetus hamster yang dipapar etanol dikarenakan vitamin E merupakan antioksidan yang dapat meminimalisir radikal bebas dengan menyumbangkan atom hidrogen fenolatnya sehingga bersifat stabil dan tidak merusak membran. Numakawa (2007) menjelaskan bahwa ROS berperan mengaktifkan berbagai protein yang terlibat dalam jalur sinyal seperti protein kinase C (PKC) yang dapat memicu serangkaian proses diantaranya proliferasi sel dan terjadinya inflamasi melalui aktivasi faktor *transkripsi nuclear factor*.

Sel dikatakan abnormal apabila sel tersebut berukuran melebihi ukuran sel normal dan mengalami perubahan bentuk dari asalnya, terkontaminasi oleh bakteri dan jamur (Djati, 2006). Abnormalitas sel yang sering muncul pada kultur sel ditandai dengan adanya sel raksasa (*giant cell*). Abnormalitas sel yang lain

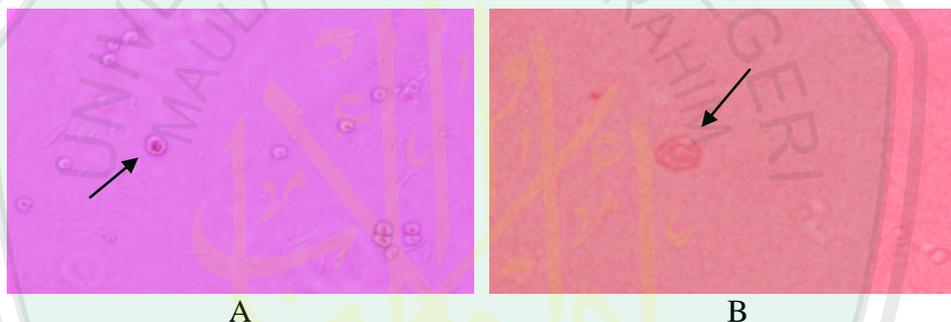
biasanya ditandai dengan adanya nekrosis. Proses nekrosis sel dapat muncul sebagai respon terhadap rangsangan spesifik misalnya stres oksidatif (Moodie, 2004). *Blebbing* atau penonjolan juga merupakan pertumbuhan sel yang abnormal. Penyebab terbentuknya blebs adalah akibat terganggunya stabilitas membran sel (Hasky, 1978).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan sel abnormal yang terbanyak pada kultur primer sel paru-paru adalah nekrosis dan sel raksasa atau *giant cell* (gambar 4.3). Sel paru-paru yang mengalami nekrosis ditandai dengan kerusakan pada membran sel sehingga terjadi keluarnya isi sel. Tanda lain yang menunjukkan bahwa sel tersebut mengalami nekrosis sel adalah adanya inti sel yang lebih gelap (piknotik). Menurut Latifah (2010) menjelaskan bahwa pada kematian sel atau nekrosis sel ditandai dengan inti sel yang mati mengalami penyusutan dan lisis yang diawali dengan kerusakan membran plasma menjadi rupture, batas tidak teratur dan warna gelap. Hasil ini sesuai dengan penelitian Moodie (2004) bahwa morfologi sel nekrosis adalah kromatin menggumpal, pembengkakan organel, kerusakan membran sel, dan keluarnya isi sel yang bisa menyebabkan inflamasi.

Price dan Wilsen (1993) dalam Oktavianti (2005) mengungkapkan, perubahan morfologis pada sel yang mati di kenal sebagai nekrosis. Inti sel yang mati biasanya menyusut, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap, proses ini dinamakan piknosis dan intinya disebut piknotik. Kemungkinan lain, inti dapat hancur sambil meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel, proses ini disebut karioreksis. Akhirnya pada beberapa keadaan, inti sel

kehilangan kemampuan dalam pewarnaan sehingga tidak terlihat disebut kariolisis.

Pada hasil pengamatan sel raksasa atau *giant* menunjukkan bahwa ukuran sel ini lebih besar dibandingkan ukuran sel paru-paru yang normal sehingga mengalami perubahan bentuk dari asalnya. Ukuran normal dari sel paru-paru adalah 10 μm (Dixon *et al.*, 1999). Menurut Freshney (2000) sel raksasa atau *giant cell* adalah sel yang volume selnya, DNA, RNA serta massa protein bertambah hingga 20-200 kali lipat daripada sel normal.



Gambar 4.2 Abnormalitas Kultur Primer Sel Paru-Paru Fetus Hamster (Perbesaran 100x) (A. Sel Nekrosis, B. Sel Raksasa (*Giant Cell*))

Mekanisme yang menyebabkan pertumbuhan abnormal ini adalah radikal bebas yang menyebabkan peningkatan ion Ca^{2+} akan mengaktifkan enzim perusak DNA seperti protease sehingga terjadi kerusakan pada DNA dan kemampuan DNA untuk *repair* atau memperbaiki DNA juga rusak sehingga terjadilah pertumbuhan sel yang abnormal. Hasil penelitian Castilla (2004) menunjukkan bahwa etanol dapat menyebabkan fragmentasi DNA dan mengaktifkan TNF alfa sehingga terjadi peningkatan nekrosis sel pada kultur sel primer.

Penelitian Orrenius dan Nicotera (1987) menyebutkan bahwa peningkatan konsentrasi Ca^{2+} intraseluler menyebabkan meningginya aktivitas beberapa enzim seperti "protease". Akibatnya, meningkat pula degradasi protein sitoskelet yang mempengaruhi kestabilan sitoskelet. Menurut Tuminah (1999) menyatakan bahwa kerusakan DNA merupakan proses oksidasi yang dapat menyebabkan terjadinya kanker. Sel yang berisi DNA rusak akan membelah sebelum DNA-nya sempat diperbaiki sehingga akan menyebabkan perubahan genetik ditandai dengan adanya proliferasi sel dan sel yang berisi DNA yang telah rusak mengakibatkan sel menjadi abnormal dalam pembelahannya (proliferasi).

Mekanisme ROS dalam aktivasi PKC berhubungan dengan perubahan homeostasis kadar Ca^{2+} disitosol karena adanya oksidasi protein membran. Dalam keadaan normal konsentrasi Ca^{2+} disitosol lebih rendah dibandingkan konsentrasi Ca^{2+} di kompartemen sel maupun di ekstraseluler. Perbedaan gradien konsentrasi ini salah satunya dipertahankan oleh pompa Ca-ATPase pada membran sel dan membran retikulum endoplasma yang dapat memompa Ca^{2+} dari sitosol dengan energi dari ATP.

Adanya peningkatan radikal bebas dalam sel dapat mengubah struktur berbagai protein melalui oksidasi residu asam amino yang menyebabkan protein tersebut kehilangan fungsinya. Squler *et al.* (2000) menyatakan bahwa ROS dapat melakukan oksidasi residu sistein pada Ca-ATPase RE sehingga merubah konformasi struktur dan inaktifasi fungsinya. Gangguan fungsi Ca-ATPase akan menyebabkan masuknya Ca^{2+} dari luar sel maupun dari RE ke dalam sitosol sehingga terjadi peningkatan kadar Ca^{2+} disitosol. Peningkatan kadar Ca^{2+} dapat

berpengaruh pada aktivasi enzim fosfolipase C di membran plasma dan akan menginduksi aktivasi PKC.

Vitamin E (*α*-tocoferol) dapat memodulasi jalur sinyal seluler terutama PKC dengan cara menghambat aktivitas PKC (Numakawa, 2006). Aktivitas vitamin E sebagai antioksidan ini berkaitan dengan kemampuannya untuk memindahkan *hidrogen fenolat* yang ada pada atom karbon ke-6 cincin kromanol kepada radikal peroksil dari asam lemak tak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi (Kumala, 1996).

Keberadaan vitamin E sebagai antioksidan eksogen dapat menghambat aktivitas PKC sehingga dapat menghindari terjadinya pertumbuhan abnormal pada sel. Sel merupakan struktur dasar dan unit fungsional terkecil yang menyusun organisme. Pertumbuhan sel-sel yang sehat akan menjadikan organisme tersebut juga sehat. Tanpa adanya pertumbuhan sel yang sehat (normal) maka kesehatan tubuh dapat terganggu sehingga berpengaruh terhadap berbagai macam aktivitas sehari-hari. Jadi kesehatan merupakan permasalahan yang penting dalam kehidupan dan salah satu nikmat dari Allah yang sangat besar.